

文章编号 :1003-8701(2014)01-0074-06

彩色马铃薯 PAL 活性与花色苷积累的相关性研究

关 巍,石 瑛*,王凤义

(东北农业大学农学院马铃薯研究所,哈尔滨 150030)

摘 要: 选用块茎着色程度不同的 6 份马铃薯无性系和马铃薯品种早大白为试验材料,分别在种植后 45 d、60 d、75 d、90 d 和 105 d 时,对其不同器官进行花色苷含量和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的检测,并对两者的变化趋势进行相关性分析。结果显示:不同供试材料和同一材料的不同器官之间,在整个生育时期中表现为,花色苷含量高的器官 PAL 活性也较高。相关性分析及回归模型显示,花色苷含量与 PAL 活性呈现线性正相关,表明 PAL 是彩色马铃薯花色苷生物合成的关键酶之一。

关键词: 马铃薯;花色苷含量;苯丙氨酸解氨酶(PAL);相关性

中图分类号:S532

文献标识码:A

Studies on Correlation of PAL Activity and Anthocyanin Accumulation of Color Potato

GUAN Wei, SHI Ying*, WANG Feng-yi

(Potato Research Institute, College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Six lines of different colored potato and 'Zaodabai' were selected as experimental materials, anthocyanin content and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity in different organization were determined at 45 d, 60 d, 75 d, 90 d, and 105 d after planting. The correlation of these two indexes was analyzed. The results showed that among different organizations of the same lines or among different clones, where the anthocyanin content was higher, the PAL activity was also higher in entire growing period. The correlation analysis and linear regression models showed that anthocyanin content was positive linear correlated with the activity of PAL. This indicated that PAL is a key enzyme in anthocyanin biosynthesis of color potato.

Keywords: Potato; Anthocyanin content; Phenylalanine ammonia-lyase; Correlation

马铃薯(*Solanum tuberosum*)是世界上种植最广泛的碳水化合物作物之一,在我国的种植面积已经仅次于小麦、玉米和水稻成为第四大粮食作物。块茎是其产品器官与营养繁殖器官,有白色、黄色、红色与紫色等不同的颜色,花色苷 anthocyanins 是决定块茎颜色的主要因素之一。花色苷是自然界中广泛存在于植物中的水溶性天然色素,属酚类化

合物中的类黄酮,是一类具有保健功能的活性成分^[1]。研究表明:马铃薯花色苷具有很强的抗氧化作用,可以清除体内的自由基;降低氧化酶的活性;加快高甘油酯蛋白的分解代谢;抑制胆固醇的吸收作用,降低胆固醇含量;并在抗突变、抗肿瘤、抗过敏、保护胃黏膜、肝脏等多功能上都有显著的作用^[2-5]。因此,对马铃薯种的花色苷研究越来越受到重视。

苯丙氨酸解氨酶(Phenylalanine ammonia-lyase, PAL)是马铃薯花色苷生物合成的第一个酶,是苯丙烷类代谢、催化苯丙烷类次级代谢的关键酶之一^[6-7]。PAL 在植物苯丙烷类次级代谢途径和花色苷、植保素、木质素等代谢产物形成过程中

收稿日期:2013-08-23

基金项目:国家科技支撑计划(2012BAD02B05-4)

作者简介:关 巍(1985-),女,在读硕士,研究方向为马铃薯遗传育种。

通讯作者:石 瑛,女,副研究员,硕士生导师,

E-mail:yshi@mail.neau.edu.cn

起到重要作用,对植物防御紫外辐射、抵御病虫害、生长发育等方面有重要价值和意义^[8-9],近些年对它的研究也颇为广泛。在苹果、油茶和葡萄等植物中研究发现,植物花色苷在果皮、叶片等植物地上部位的合成和积累与 PAL 活性存在密切的正相关^[10-11],但也有些学者认为植物花色苷合成和积累与 PAL 的活性没有明显的关系^[12-13]。因此,对于 PAL 是否为花色苷合成中的关键酶存在分歧。

马铃薯的花色苷主要累积于地下块茎中,对于花色苷积累和 PAL 活性的关系研究的较少,本试验对 6 份无性系和一个马铃薯品种全生育时期的花色苷含量和 PAL 活性进行了检测,并对花色苷含量与 PAL 活性的相关性进行研究,已明确 PAL 在马铃薯花色苷生物合成中的作用与地位,旨在为彩色马铃薯花色苷积累的生化以及分子机制提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

本试验材料由东北农业大学马铃薯研究所提供,以块茎着色程度不同的 6 份无性系和马铃薯品种早大白为试验材料。

1.2 试验方法

将已选定的试验材料种植于田间,分别在种植后 45 d、60 d、75 d、90 d 和 105 d 取整株进行调查。每次取样时以田间相邻的 2 单株为一个重复,每次每份材料顺序取样 6 株,即重复 3 次,分别测量叶、茎和块茎中花色苷含量和 PAL 酶活性。

1.2.1 花色苷测定的材料预处理

取新鲜马铃薯植株洗净擦干,按叶、茎和块茎 3 部分,分别取材并称重,再将每部分切碎,备用。

1.2.2 花色苷的提取

色素的提取采用酸化甲醇法^[14]。用电子分析天平准确称取切碎的马铃薯各部位组织 0.500 g 置于研钵中,加入 5 mL 盐酸-甲醇溶液(1:99 v/v)一起充分研磨成匀浆,室温条件下静止放置 18 h 后,10 000 r/min 离心 10 min,上清液为花色苷提取液。取 400 μ L 花色苷提取液加入 600 μ L 上述盐酸-甲醇溶液混匀,分别在 530 nm 波长和 657 nm 波长处记录吸光度。

1.2.3 花色苷含量的计算

根据样品的吸光度值,分别按下式计算样品中花色苷含量:

$$\text{花色苷的含量 } Q = (A_{530} - 0.25 \times A_{657}) / M$$

Q 表示花色苷的含量, A_{530} 和 A_{657} 表示在该波长处的吸光度, M 表示植物材料的鲜重。

1.2.4 PAL 的提取与活性测定

PAL 的提取与活性测定的方法^[13]:0.5 g 材料加入 5 mL 的提取液,加少量石英砂,于 -20℃ 预冷的研钵中冰浴研磨,4 层纱布过滤。滤液经 4℃,15 000 r/min 离心 20 min,取上清液作为粗酶液,用于 PAL 活性测定。

5 mL 的提取液:0.1 mol/L 硼酸盐缓冲液(pH8.8)5 mL,1 mol/L β -巯基乙醇 90 μ L,1 mol/L 抗坏血酸 25 μ L, PVPP 0.5 mg。

取 1 mL 粗酶液加 2 mL 蒸馏水再加 1 mL 反应底物(0.02 mol/L 的 L-苯丙氨酸),对照加 3 mL 蒸馏水。34℃ 恒温水浴 30 min,加 0.5 mL 35% 的三氯乙酸(TCA)终止反应。7 000 r/min 离心 20 min 去除变性蛋白,在 290 nm 波长处测定光吸收值。以 1 mL 反应液每小时在 290 nm 处吸光度变化 0.01 为 1 个酶活单位,用 U 表示^[15]。

以上试验操作重复 3 次,每次操作设 3 个重复。

1.2.5 统计方法

试验数据用 DPS 数据统计软件和 Excel2007 进行相关性和线性回归等统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同马铃薯无性系(品种)成熟后各组织内 PAL 活性与花色苷含量的相关性

2.1.1 不同马铃薯无性系(品种)成熟后各组织内花色苷含量与 PAL 活性的变化

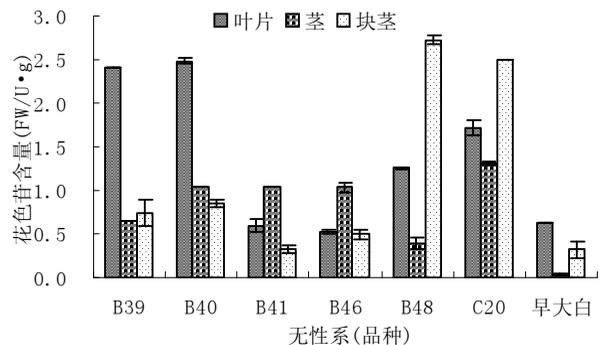


图 1 不同马铃薯无性系(品种)各组织中花色苷含量

不同马铃薯无性系(品种)成熟后各组织内花色苷含量存在着明显的差异(图 1)。无性系 B39 和 B40 中花色苷含量最高的组织是叶,最低的分别是茎和块茎;无性系 B41 和 B46 中花色苷含量最

高的组织是茎,最低为块茎;无性系 B48 和 C20 中花色苷含量最高的组织是块茎,最低为茎;马铃薯品种早大白中花色苷含量明显低于其他无性系,最高的组织是叶,而块茎中含量极低。

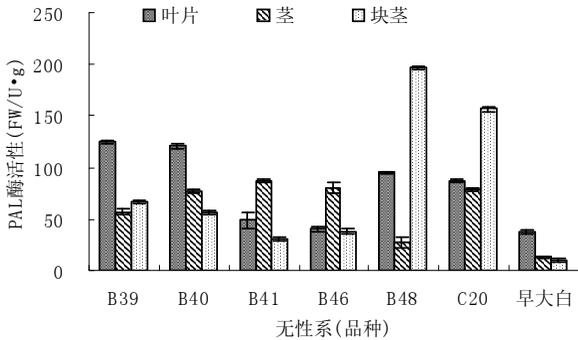


图2 不同马铃薯无性系(品种)各组织中 PAL 活性
PAL 活性测定的结果(图 2)表明, PAL 活性的

变化与花色苷含量的变化趋势基本一致,在花色苷含量较高的组织中其 PAL 活性也较高。无性系 B39 和 B40 叶片颜色较深,花色苷含量明显高于茎与块茎,其 PAL 活性也高于茎与块茎;无性系 B41 和 B46 茎呈现紫色,花色苷含量高于叶与块茎,其 PAL 活性也高于叶与块茎;无性系 B48 和 C20 叶、茎呈现绿色,而块茎呈现深紫色,其块茎的花色苷含量高于叶和茎, PAL 活性也高于叶和茎;品种早大白是花色苷含量较低的马铃薯品种,其 PAL 活性也最低。

2.1.2 不同马铃薯无性系(品种)各组织内花色苷含量与 PAL 活性的相关性分析

对不同马铃薯的无性系(品种)各组织中花色苷含量与 PAL 活性进行相关性分析(表 1)。结果表明,在不同马铃薯无性系(品种)的各组织中, PAL 活性与花色苷含量均呈现极显著的线性正相关。

表 1 花色苷含量与 PAL 活性的相关性

无性系(品种)	器官	相关系数	回归自由度	显著性	无性系(品种)	器官	相关系数	回归自由度	显著性	
B39	叶	0.913	20	**	B46	块茎	0.956	20	**	
	茎	0.873	20	**		B48	叶	0.921	20	**
	块茎	0.995	20	**			茎	0.953	20	**
B40	叶	0.796	20	**	块茎	0.995	20	**		
	茎	0.904	20	**	C20	叶	0.752	20	**	
	块茎	0.873	20	**		茎	0.853	20	**	
B41	叶	0.910	20	**	块茎	0.967	20	**		
	茎	0.955	20	**	早大白	叶	0.843	20	**	
	块茎	0.998	20	**		茎	0.942	20	**	
B46	叶	0.835	20	**	块茎	0.993	20	**		
	茎	0.734	20	**						

2.2 不同生长时期的马铃薯各组织中 PAL 活性与花色苷积累的相关性

2.2.1 不同生长时期马铃薯无性系(品种)叶片中花色苷含量与 PAL 活性的变化

不同生长时期马铃薯无性系(品种)叶片中花色苷含量与 PAL 活性的变化如图 3 与图 4 所示。二者的变化趋势基本保持一致。叶片中花色苷含

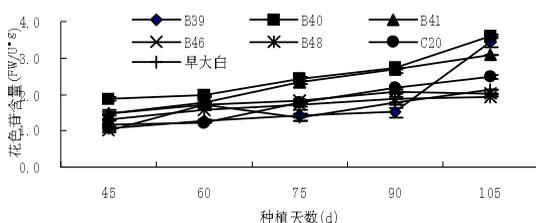


图 3 不同生长时期各马铃薯无性系(品种)叶片中花色苷含量的变化

量在 60~75 d 时明显有增加趋势,在 90~105 d 增加较快,无性系 B39 与 B40 的花色苷含量在 60 d 后明显高于其他无性系(品种)并保持持续增加;PAL 活性在 60~75 d 时明显增加,在 75~105 d 时 PAL 活性处于较高水平,增加较缓慢,无性系 B39 与 B40 在 60 d 后 PAL 含量高于其他无性系(品种)并保持持续升高。

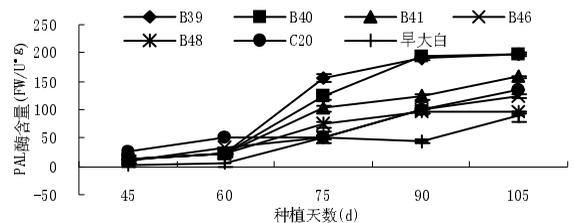


图 4 不同生长时期各马铃薯无性系(品种)叶片中 PAL 活性的变化

2.2.2 不同生长时期马铃薯无性系(品种)茎中花色苷含量与 PAL 活性的变化

不同生长时期马铃薯无性系(品种)茎中花色苷含量与 PAL 活性的变化如图 5 与图 6 所示,花色苷与 PAL 变化基本保持一致,并在一定范围内保持波动变化。茎中的花色苷含量与 PAL 活性一直保持在一个较低水平,并且在整个生理时期中

有较大的波动变化。B40 和早大白花色苷含量与 PAL 活性在全生育时期基本保持不变;B39、B41、B48 和 C20 在 45~60 d 和 75~90 d 时花色苷含量与 PAL 活性呈现下降趋势,在 60~75 d 和 90~105 d 二者呈现上升趋势,并且 PAL 变化比花色苷含量变化更加明显;而 B46 则在 45~60 d 和 75~90 d 内二者均呈现上升趋势而在 60~75

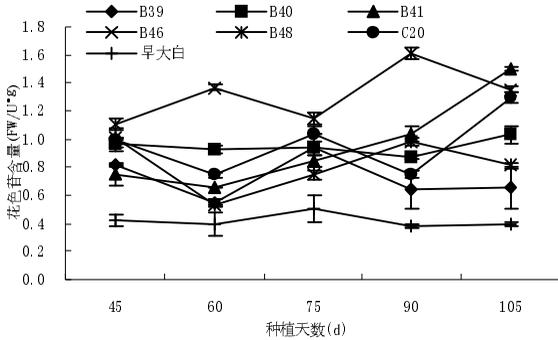


图 5 不同生长时期各马铃薯无性系(品种)茎中花色苷含量的变化

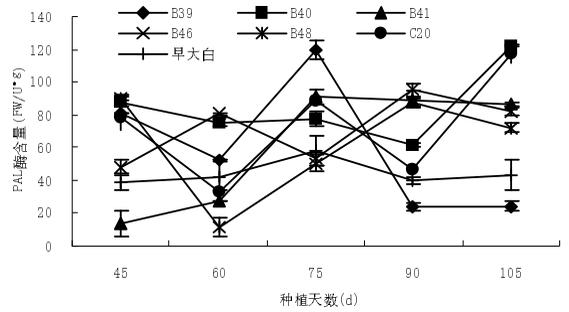


图 6 不同生长时期各马铃薯无性系(品种)茎中 PAL 活性的变化

d 和 90~105 d 内二者均呈现下降趋势。

2.2.3 不同生长时期马铃薯无性系(品种)块茎中花色苷含量与 PAL 活性的变化

不同生长时期马铃薯无性系(品种)块茎中花色苷含量与 PAL 活性的变化如图 7 与图 8 所示,花色苷与 PAL 变化基本保持一致,并呈现出不断

上升趋势,除品种早大白外,其他无性系花色苷含量与 PAL 活性一直保持较高水平。并且无性系 C20 在全生育时期无论花色苷含量还是 PAL 活性均高于其他无性系(品种),而无性系 B48 在生育期 75~105 d 内花色苷含量和 PAL 活性高于其他无性系(品种)。

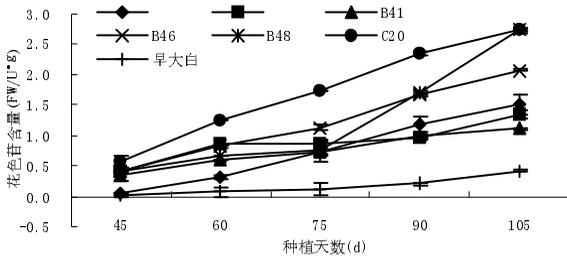


图 7 不同生长时期各马铃薯无性系(品种)块茎中花色苷含量的变化

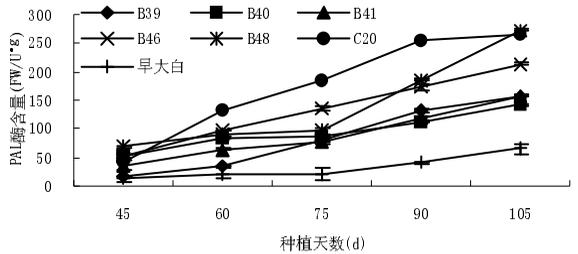


图 8 不同生长时期各马铃薯无性系(品种)块茎中 PAL 活性的变化

2.2.4 不同生长时期马铃薯各组织内花色苷含量与 PAL 活性的相关性分析

对 7 份材料在不同生长时期各组织的花色苷

含量与 PAL 活性建立回归模型,如表 2,该模型表明,各组织在不同生长时期的花色苷含量与 PAL 活性都呈现出线性正相关。

表 2 不同生长时期花色苷含量与 PAL 活性的线性回归模型

无性系(品种)	器官	回归模型	决定系数(R ²)	F 值	显著性
B39	叶	Y=0.973 0X+0.006 6	0.942 1	21.95	0.025 6
	茎	Y=0.523 9X+0.003 3	0.717 7	7.63	0.070 1
	块茎	Y=0.858 3X+0.009 9	0.995 1	612.03	0.000 1
B40	叶	Y=1.747 5X+0.007 0	0.801 2	12.09	0.040 1
	茎	Y=0.725 4X+0.002 6	0.958 9	70.04	0.003 6
	块茎	Y=0.834 2X+0.009 7	0.959 7	71.49	0.003 5

续表 2

无性系(品种)	器官	回归模型	决定系数(R ²)	F 值	显著性
B41	叶	Y=1.418 8X+0.010 1	0.981 2	156.37	0.001 1
	茎	Y=0.600 5X+0.005 8	0.426 1	22.23	0.023 2
	块茎	Y=0.814 7X+0.006 4	0.958 2	68.74	0.003 7
B46	叶	Y=1.231 4X+0.007 7	0.715 9	7.56	0.070 8
	茎	Y=0.620 0X+0.009 7	0.942 7	49.32	0.005 9
	块茎	Y=0.812 3X+0.010 5	0.992 6	401.47	0.000 3
B48	叶	Y=1.298 8X+0.006 3	0.917 6	33.43	0.010 3
	茎	Y=0.450 2X+0.005 9	0.964 6	81.7	0.002 9
	块茎	Y=0.840 7X+0.011 2	0.999 6	7614.56	0.000 1
C20	叶	Y=0.879 6X+0.001 2	0.879 2	21.84	0.018 5
	茎	Y=0.481 1X+0.006 7	0.966 6	86.71	0.002 6
	块茎	Y=0.813 9X+0.009 2	0.978 5	136.56	0.001 4
早大白	叶	Y=1.484 0X+0.005 2	0.945 3	21.95	0.025 6
	茎	Y=0.459 3X+0.005 9	0.794 9	11.63	0.042 2
	块茎	Y=0.73 8X+0.007 4	0.991 0	328.8	0.000 4

3 结论与讨论

分析不同马铃薯无性系(品种)各器官在全生育期中 PAL 活性和花色苷含量的变化,结果表明,着色程度深的器官内其花色苷的含量也高, PAL 活性也高;不同生育时期的各器官内花色苷含量与 PAL 活性的变化趋势相一致。相关性分析结果显示,不同马铃薯无性系(品种)的各器官内 PAL 活性与相应的花色苷含量呈现显著线性正相关。

花色苷的生物合成代谢是一个复杂的过程, PAL 是花色苷合成代谢的限速酶和关键酶。它是连接初级代谢和苯丙烷类合成代谢、催化苯丙烷合成次级代谢的第一步反应,苯丙烷类产物反酰豆辅酶 A 经过类黄酮途径可生成花色苷等产物^[15],也是在近些年来研究较多的酶之一。

在马铃薯中,无性系 B48 和 C20 的块茎着色深于叶和茎,花色苷含量也高于叶和茎, PAL 活性的变化与花色苷含量相符;无性系 B39 和 B40 叶片颜色深于茎和块茎颜色,其叶片花色苷含量与 PAL 活性也高于茎和块茎;无性系 B41 和 B46 茎呈现紫色,其茎部花色苷含量与 PAL 活性也高于其他器官;品种早大白块茎为白色,只有幼嫩茎、叶含有少量花色苷,块茎几乎检测不到花色苷的存在,而 PAL 活性在早大白块茎中也非常低。

关于 PAL 活性与花色苷积累之间的关系一直以来都存在一些争议。王慧聪^[12]等对荔枝着色的研究结果认为 PAL 与荔枝果皮花色苷的合成

没有直接关系,而杨光道^[16]对油茶果皮的研究结果认为花色苷含量与 PAL 活性呈现正相关关系;王淑芬^[17]对心里美萝卜色素合成规律研究结果认为心里美萝卜花色苷含量与 PAL 活性呈现正相关关系;张必弦等^[18]对野生大豆 PAL 研究发现,野生大豆花色苷含量与 PAL 活性存在一定的线性相关性。本试验的研究结果表明,彩色马铃薯的花色苷合成与 PAL 活性密切相关,着色程度深的器官内,其花色苷含量也高, PAL 活性也高。花色苷的含量随 PAL 活性的升高而增加,且 PAL 活性与各器官内花色苷含量呈现线性正相关。因此,本文支持大多数对其它植物研究的观点, PAL 直接参与了马铃薯各器官中花色苷和生物合成代谢过程,是马铃薯花色苷代谢过程中的关键酶。

参考文献:

- [1] 卢钰,董现义,杜景平,等. 花色苷研究进展[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2004, 35(2): 315-320.
- [2] Stelljes K B. Colorful potatoes offer nutrition variety[J]. Agricultural Research, 2001, 49(10): 6-8.
- [3] 徐渊金,杜琪珍. 花色苷生物活性的研究进展[J]. Food Machinery, 2006, 22(6): 154-159.
- [4] 王关林,岳静,苏冬霞,等. 甘薯花青苷色素的抗氧化活性及抗肿瘤作用研究[J]. 营养学报, 2006, 28(1): 71-75.
- [5] 刘洋. 植物花色苷及其生物活性的研究进展[J]. 青海农林科技, 2010(3): 35-38.
- [6] Neish A C. Biosynthesis pathway of aromatic compounds [J]. Review of Plant Physiology, 1960(11): 15-17.
- [7] 欧阳光察,应初衍,薛应龙,等. 植物苯丙氨酸解氨酶的研究[J]. 植物生理学报, 1985, 11(2): 204-214.
- [8] 江昌俊,余有本. 苯丙氨酸解氨酶的研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2001, 28(4): 425-430.

- [9] 刘 洋. 花色苷生物代谢途径中相关酶的研究进展[J]. 药学服务与研究, 2011, 11(1): 34-37.
- [10] 赵方宗, 赵 勇, 吴桂法. 果实花青素含量与 PAL 活性关系的研究[J]. 园艺学报, 1994, 21(2): 199-200.
- [11] 刘闯萍, 王 军. 葡萄花色苷的生物合成[J]. 植物生理学通讯, 2008, 4(22): 363-365.
- [12] 王慧聪, 黄旭明, 胡桂兵, 等. 荔枝果皮花青素合成与相关酶的关系研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 2028-2032.
- [13] Lister C E, Lancaster J E. Developmental changes in enzymes of flavonoid biosynthesis in the skins of red and green apple cultivars [J]. Journal of Science of Food Agriculture, 1996(71):313-320.
- [14] Mehrstens F, Kranz H, Bednarek P, et al. The Arabidopsis tran-

scription factor MYB12 is a flavonol-specific regulator of phenylpropanoid biosynthesis[J]. Plant Physiology, 2005(138): 1083-1096.

- [15] 孟 丽, 戴思兰. F3', 5 'H 基因与蓝色花的形成[J]. 分子植物育种, 2004, 2(3): 413-420.
- [16] 杨光道, 段 琳, 束庆龙, 等. 油茶果皮花青素、糖含量和 PAL 活性与炭疽病的关系[J]. 林业科学, 2007(6): 100-104.
- [17] 王淑芬. 心里美萝卜色素合成规律研究及萝卜花青素调节基因的克隆[D]. 山东农业大学, 2006.
- [18] 张必弦, 胡小梅, 朱延明, 等. 野生大豆苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 在不同诱导条件下变化规律 [J]. 大豆科学, 2011, 4(30): 703-706.

(上接第 57 页)

3 结论与讨论

本试验结果表明, 白头翁根部乙醇提取液对菜青虫快速变态具有显著影响。

通过 48 h 和 72 h 的回归方程分析结果(表 2) 可知, 白头翁根、茎、叶 3 个部位中, 只有根部乙醇提取液对菜青虫快速变态有促进作用, 并随着浓度提高变态率提高。但是当质量浓度为 37.5 mg/mL 时变态率最高, 达 99.7%, 超过此浓度虫体死亡。原因可能有以下 4 种情况: 一是白头翁根中含有促进菜青虫快速变态的物质, 此物质可能是抗保幼激素(早熟素)的成分, 可能是供试药剂诱发抗保幼激素(早熟素)提前释放, 但是当浓度过高时, 药物毒性升高, 导致虫体死亡; 二是根促进菜青虫快速变态的活性物质极易被乙醇提取; 三是根中起促进菜青虫快速变态的活性物质在乙醇提取液中能保持较好的稳定性; 四是茎和叶的乙醇提取液对促进菜青虫快速变态效果不明显, 其原因可能是茎和叶中含促进菜青虫快速变态的物质较少或茎和叶中促进菜青虫快速变态的活性物质不易被乙醇提取出来, 导致茎和叶的乙醇提取液中促进菜青虫快速变态活性物质含量少效果不明显。白头翁根中何种物质可以促进菜青虫快速变态, 以及活性物质的进一步分离、提纯及对昆虫的

作用机制等方面还有待更深入的研究。

用有毒植物提取液对菜青虫生物活性的研究大多集中于拒食和触杀^[7-10], 关于白头翁促进菜青虫快速变态的研究尚未见报道。本研究结果对利用白头翁根进一步开发低毒农药防治菜青虫奠定基础。

参考文献:

- [1] 舒 莹, 韩广轩, 刘文庸, 等. 中药白头翁的药材、化学成分和药理作用的研究[J]. 药学实践杂志, 2000, 18(6): 387-389.
- [2] 钟长斌, 李 祥. 白头翁的化学成分及药理作用研究述要[J]. 中医药学刊, 2003, 21(8): 1338-1339.
- [3] 陈 静, 朴钟云, 刘显军, 等. 白头翁的生物学功能及应用现状[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(3): 4-6.
- [4] 乔淑芬, 于锡钢, 顾地周. 白头翁不同提取液对大豆荚螟的触杀活性[J]. 河南农业科学, 2009(6): 105-107.
- [5] 邓振伟, 于 萍, 陈 玲. SPSS 软件在正交试验设计、结果分析中的应用[J]. 电脑学习, 2009(5): 15-17.
- [6] 顾地周, 巴春影, 谢艳君. 长白山区 3 种乌头属植物对 3 种农作物螟虫触杀活性的比较[J]. 农药, 2011(4): 296-299.
- [7] 肖 波, 周 俗, 张可君, 等. 瑞香狼毒中杀灭菜青虫活性成分的提取与分离 [J]. 四川大学学报 (自然科学版), 2005, 42(3): 605-609.
- [8] 李水清, 张钟宁. 艾蒿提取物对菜青虫的生物活性[J]. 昆虫知识, 2004, 41(5): 439-442.
- [9] 秦小萍, 赵红艳, 杨美林. 坡柳种子提取物对菜青虫取食和生长发育的影响[J]. 农药, 2007, 46(7): 494-499.
- [10] 陈 力, 徐汉虹, 赵善欢. 唐古特瑞香对菜粉蝶幼虫的拒食和胃毒活性[J]. 华南农业大学学报, 2000, 21(1): 44-46.